

Gélose de SLANETZ et BARTLEY

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose de Slanetz et Bartley est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux d'alimentation, les boissons, les eaux usées et divers produits biologiques d'origine animale, par la technique de filtration sur membrane.

HISTORIQUE

Le milieu a été formulé par Slanetz *et al*. afin de numérer les entérocoques dans l'eau et les boissons par la technique de filtration sur membrane. Une modification utilisant l'addition de TTC (chlorure de triphényltétrazolium) au milieu permet d'obtenir de meilleurs comptages lorsque les membranes sont placées directement à la surface de la gélose. La formule actuelle donne des résultats comparables à ceux obtenus par la technique mise au point par Litsky, Mallmann et Fifield pour la détection des streptocoques fécaux.

PRINCIPES

- L'azide de sodium permet d'inhiber la croissance des microorganismes à Gram négatif.
- Le TTC est un indicateur de la croissance bactérienne. Il est réduit en formazan insoluble à l'intérieur de la cellule. Cette réaction se manifeste par l'apparition de colonies de couleur rouge à marron.

PREPARATION

A partir du milieu déshydraté complet :

- Mettre en suspension 41,5 g de milieu déshydraté complet (BK037) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Eviter tout chauffage excessif.
- Ne pas autoclaver.
- Refroidir et maintenir à 47°C (ne pas refondre un milieu repris en masse).
- Couler en boîtes de Petri stériles (l'épaisseur de gélose doit être au moins égale à 5 mm).
- Laisser solidifier sur une surface froide.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

A partir du milieu déshydraté de base (sans TTC):

- Mettre en suspension 41,4 g de milieu de base déshydraté (BK129) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir stérilement en flacons stériles, à raison de 100 mL par flacon.
- (Si nécessaire, le milieu de base peut-être autoclavé pendant 20 minutes à 110°C).
- Refroidir et maintenir le milieu à 47°C.
- Ajouter stérilement 1 mL de supplément TTC 50 mg reconstitué (BS027) par flacon.
- Homogénéiser parfaitement.
- Couler en boîtes de Petri stériles (l'épaisseur de gélose doit être au moins égale à 5 mm).
- Laisser solidifier sur une surface froide.

MODE D'EMPLOI

- Filtrer stérilement sur membrane un volume déterminé de l'échantillon à tester.
- A la surface des boîtes ainsi préparées ou du milieu pré-coulé (BM146 ou BM094) ramené à température ambiante, déposer la membrane à la surface de la gélose, en veillant à ce que le contact soit parfait.
- Incuber à (36 ± 2)°C pendant (44 ± 4) h.

LECTURE

Les colonies présentant une coloration rouge à marron doivent être considérées comme caractéristiques. Procéder à la confirmation des colonies typiques en utilisant une gélose BEA (BK158 ou BM104).

FORMULE - TYPE du milieu complet

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptose ....20,0 g
- Extrait autolytique de levure..5,0 g
- Glucose...2,0 g
- Phosphate dipotassique...4,0 g
- Azide de sodium ....0,4 g
- Chlorure de 2, 3, 5 triphényltétrazolium ....0,1 g
- Agar agar bactériologique...10,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,2 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieux déshydratés : poudre blanc crème, fluide et homogène.
- Milieu préparé (complet) : gélose ambrée à rose orangé.
- Réponse culturale typique après 44 h d'incubation à 36°C (NF T90-461) :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité)	Caractéristiques
Enterococcus faecalis	CCM 2541	66% ≤ R_3 ≤ 150%	colonies rouges à marron
Staphylococcus aureus	CIP 53.154	inhibée	

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieux déshydratés (BK037, base BK129) : 2-30°C.
- Les dates de péremption sont mentionnées sur les étiquettes.
- Milieu de base sans TTC (BK129) préparé en flacons : 6 mois à 2-8°C (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé en boîtes (à partir du milieu de base BK129), avec supplément : 8 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).
- Milieu complet préparé en boîtes (à partir du milieu complet BK037) : 3 jours à 2-8°C, à l'abri de la lumière (à titre indicatif).

Supplément TTC 50 mg :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieux pré-coulés en boîtes de Petri :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

	Code
Milieux complets pré-coulés en boîtes de Petri (Ø 55 mm) :	
- Coffret de 20 boîtes	BM14608
- Coffret de 120 boîtes	BM09408
Milieu complet déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK037HA
Milieu de base (sans TTC) déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK129HA
Supplément TTC 50 mg :	
- Coffret de 10 flacons qsp 500 mL	BS02708

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :



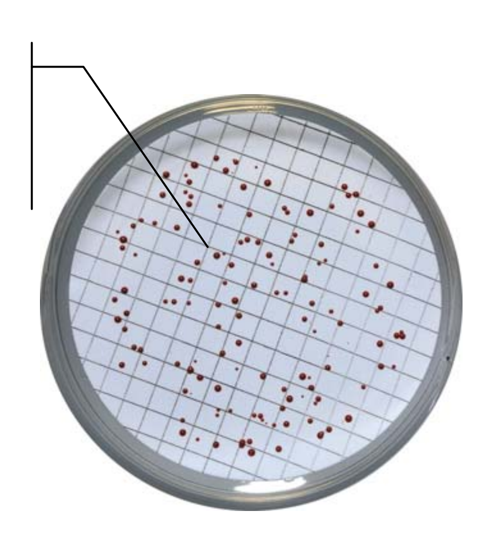
Référence : [BK129HA + BS02708], BK037HA, BM14608, BM09408

Domaine d'utilisation : Dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux.

Enterococcus faecalis

Colonie caractéristique

Couleur rouge à marron



Gélose de Slanetz et Bartley

Réf : BM14608

Incubation 48 heures à 37°C (filtration sur membrane)

Colonies caractéristiques colonies rouges à marrons
(réduction du TTC)

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Slanetz, L.W., Bent, D.F., and Bartley, C.H. 1955. Use of the membrane filter technique to enumerate enterococci. Public Health. Rep., 70: 67.

Slanetz, L.W., and Bartley, C.H. 1957. Numbers of enterococci in water, sewage, and faeces, determined by the Membrane Filter Technique with an improved medium. J. Bacteriol., 74 (5): 591.

Rodier, J. 1984. L'analyse de l'eau. Dénombrement des streptocoques fécaux présumés. (Méthode par filtration sur membrane). Dunod 7è Ed., 828-829.

NF EN ISO 7899-2 (T 90-416). Août 2000. Water quality. Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux - Partie 2 : Méthode par filtration sur membrane.

NF T 90-461. Juillet 2001, NF T 90-461/A1. Juin 2005 et NF T90-461/A2. mai 2007. Qualité de l'eau. Microbiologie. Contrôle qualité des milieux de culture.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr